

**Funktionelle, histologische
und karyometrische Untersuchungen an der
Rattenniere nach akuter temporärer Ischämie**

Godehard Müller

=
1964

Aus dem Senckenbergischen Pathologischen Institut der Universität
Frankfurt am Main

(Direktor : Prof. Dr. W. Rotter)

FUNKTIONELLE, HISTOLOGISCHE UND KARYOMETRISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN DER RATTENNIERE NACH AKUTER
TEMPORÄRER ISCHÄMIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Godehard Müller
aus Aschaffenburg am Main
Frankfurt am Main 1965

Dekan : Professor Dr. J. Frey
Referent : Professor Dr. H. Lapp
Korreferent : Professor Dr. J. Frey
Mündliche Prüfung : 20. Oktober 1964



Bei Beendigung dieser Arbeit danke ich Herrn
Professor Dr. Lapp, Frankfurt, für die Über-
lassung des Themas meiner Dissertationsarbeit,
das in besonderem Maße meinem wissenschaft-
lichen Interesse entsprach. Ganz besonders
sage ich meinen Dank für die wertvolle Unter-
stützung, die er mir bei der Fertigstellung der
Arbeit zuteil werden ließ.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	7
II. Eigene Untersuchungen	8
A) Material und Methodik	8
1. Funktionelle Untersuchungen	9
2. Histologische Untersuchungen	10
3. Karyometrische Untersuchungen	13
B) Ergebnisse	15
1. Das Verhalten der Diurese	15
2. Die histologischen Veränderungen zu verschiedenen Manifestationszeiten	19
3. Das Verhalten der Zellkerngrößen	23
III. Diskussion	32
A) Zusammenfassung der Befunde	32
B) Besprechung der	34
1. Funktionsstörung	34
2. histologischen Befunde	34
3. karyometrischen Ergebnisse	35
Zusammenfassung	37

I. Einleitung und Fragestellung

=====

Das Krankheitsbild, das durch eine zeitweilige totale Sperre der Blutversorgung der Niere hervorgerufen wird (Rotter, Rotter-Lapp-Zimmermann, Fajers, Cain), gleicht dem der sogenannten "akuten Nephrose". Sie stellt ein akutes Versagen der von der Niere zu fordernden Funktion dar, verbunden mit einer mehr oder weniger starken Degeneration ihres Parenchyms. Um auf die vorwiegend oder gar ausschließlich tubuläre Schädigung hinzuweisen, um die es sich handelt, wird oft die Bezeichnung "akute tubuläre Insuffizienz" (Wollheim) bevorzugt.

Für das gleiche Krankheitsbild ist noch eine zweite Ursache möglich, nämlich eine toxische Schädigung des Nephrons (Rotter, Lapp-Schafé, Fajers). Das schädigende Agens greift dabei die gleichen Teile der Zellstruktur an wie die Eschämie, nämlich die Mitochondrien (Rotter, Lapp). Deshalb sei hier der experimentell gesetzte Schaden genauer als "ischämische akute Nephrose" bezeichnet im Gegensatz zur "toxischen akuten Nephrose" (Rotter-Lapp-Zimmermann).

Aus klinischer Sicht ist sie als Modell der Schockniere anzusehen. Der besondere Reichtum der Tubulus-Epithelzellen an Mitochondrien weist auf die große Aktivität und damit auf die Verletzbarkeit dieser Zellen hin. Wollheim berichtet, daß von 60 Patienten mit großen intestinalen Blutungen 45 die Zeichen einer tubulären Insuffizienz zeigten. Dagegen hatten nur 30 Patienten Zeichen einer cardialen Hypoxie.

Den hier zu beschreibenden Untersuchungen direkt vorausgegangen sind Untersuchungen von Rotter, Lapp und Zimmermann über "Pathogenese und morphologisches Substrat des 'akuten Nierenversagens' und seiner Erholungszeit". Es wurde in mehreren Versuchsreihen an Ratten- und Kaninchennieren durch 10, 20, 40, 60 oder 90 Minuten dauernde Ischämie ein akutes Nierenversagen erzeugt. Die Tiere wurden nach 1, 4, 7 und 28 Tagen Manifestationszeit getötet und die Nieren histologisch und histochemisch untersucht.

Nach den dabei erhobenen Befunden interessierte es, kontinuierliche Beobachtungen der Reparationsphase mit dicht aufeinanderfolgenden Manifestationszeiten zu machen. Dazu bot sich als einheitliche Versuchsbedingung eine Ischämiedauer von 20 Minuten als günstig an; Einerseits sind dabei die durch die Noxe entstandenen Veränderungen bereits deutlich ausgeprägt, andererseits sind der Schaden und die Zeit seiner Wiederherstellung noch gut überblickbar.

Deshalb haben wir an Versuchstieren durch 20-minütige Ischämie der Niere eine akute Nephrose erzeugt um festzustellen, welche morphologischen Veränderungen sich im Verlaufe der Wiederherstellung des Schadens beobachten lassen, und wie diese mit den pathophysiologischen Beobachtungen zeitlich und funktionell parallel zu setzen sind.

Um in den morphologischen Beobachtungen ein objektivierbares Kriterium der sich abwickelnden Vorgänge zu erhalten, wurden neben dem Vergleich der histologischen und zytologischen Bilder die Schwankungen der Kerngröße als Ausdruck der Proteinsynthese-Aktivität gemessen.

II. Eigene Untersuchungen

=====

A. Material und Methodik

Als Versuchstiere wurden ausschließlich junge weibliche Albinoratten (Stamm Wistar) mit einem Lebendgewicht zwischen 120 und 200 g verwandt. Für alle folgenden Ausführungen ist die Operation der Ratten mit Abklemmung des Nierenstiels Voraussetzung :

In Narkose durch intraperitoneale Injektion von 3 bis 5 mg Nembutal pro 100 g Körpergewicht wird mit einem Längsschnitt zwischen Rippenbogen und Beckenkamm der linken Seite die Bauchhöhle eröffnet. Von hier aus läßt sich die Niere mobilisieren und an ihrer konvexen Seite etwas anheben. Eine vorn gebogene und an ihren Backen durch Gummi entschärfte Klemme läßt sich dann mit einiger Vorsicht so über die Niere hinwegchieben, daß sie beim Schließen den Nierenstiel vollständig erfaßt. Nicht sicher erfassen läßt sich aber der Zipfel der Nierenkapsel, der zur Nebenniere zieht und häufig arterielle Anastomosen zwischen ihr und der Niere mitführt. Er wird durchtrennt und damit auch die Kapsel eröffnet. Nennenswerte Blutungen treten dabei selten auf.

Die Klemme bleibt 20 minuten lang liegen, wobei die Bauchhöhle provisorisch verschlossen wird. Sollte das Tier (für die Diuresekontrolle) doppelsei-

tig operiert werden, wird sofort die rechte Seite auch eröffnet und in gleicher Weise eine Klemme angelegt.

Die blaßbraun verfärbte Niere wird nach Öffnung der Klemme und Wiederherstellung ihres Kreislaufes kräftig braunrot und schwillt an. Das Organ wird nun in seine normale Lage reponiert und die Bauchwand mit zweischichtiger Naht verschlossen.

1. Funktionelle Untersuchungen

Vorbereitungen :

Die Tiere sitzen auf einem Messinggitter in einem aus Plexiglas hergestellten Käfig. Ein rechteckiger Trichter, der unter dem Gitter hängt, leitet den Harn in ein darunter stehendes Gefäß. Ein engmaschiges Drahtnetz fängt den Kot und sonstige feste Bestandteile vorher auf. Futter und Wasser werden den Tieren derart geboten, daß nichts von beidem in den Trichter gestreut oder gegossen werden kann. Die Wasserversorgung macht dabei insofern Schwierigkeiten, als manche Tiere das Tränksystem gar nicht oder erst nach langem Dursten durchschauen.

Um individuelle Schwankungen auszuschalten, verwerteten wir bei dem Versuch gleichzeitig den Harn von fünf Ratten. Wir achteten darauf, daß die Tiere unter annähernd gleichen Umweltbedingungen lebten ($20 - 23^{\circ}\text{C}$, um 60 % relative Luftfeuchtigkeit).

Messungen unter normalen Bedingungen :

Es wurden zunächst bei den noch gesunden Tieren fünf Tage lang die Normalwerte der Ausscheidungen bestimmt :

- 1.) Das Volumen der täglichen Harnausscheidung.
- 2.) Das spezifische Gewicht des Harnes. Die Bestimmung erfolgte mittels exakter Wägung in Pyknometerröhrchen und im Vergleich mit gleich-temperiertem aqua dest.
- 3.) Die Menge ausgeschiedener Trockensubstanz. Um Werte zu erhalten, die gleichzeitig das Volumen und die Konzentration des Urins erfassen, errechneten wir das Produkt aus dem Harnvolumen in ml und dem Wert, um den das spezifische Gewicht des Harnes das von Was-

ser (nämlich 1, 000) übersteigt. Das Ergebnis sei die Grammzahl der ausgeschiedenen Trockensubstanz.

- 4.) Eiweiß wurde nur qualitativ (durch die Kochprobe) bestimmt, da schon die physiologischen Schwankungen der Eiweißausscheidung bei der Ratte sehr groß sind.

Messungen unter Versuchsbedingungen :

Nachdem die Ausgangswerte gewonnen waren, operierten wir die fünf Tiere in der beschriebenen Weise doppelseitig. Danach bestimmten wir zwei Wochen lang täglich Volumen, spezifisches Gewicht, Trockensubstanz und Eiweißgehalt der Ausscheidungen dieses Rattenkollektivs. Anschließend mußten die Tiere einen Tag lang dursten, um die wiedergewonnene Konzentrationsfähigkeit ihrer Nieren unter Beweis zu stellen.

Um eine Kontrolle der Ergebnisse zu erreichen, wurden außerdem bei Einzeltieren die gleichen Experimente und Messungen vorgenommen.

Wir sind uns bewußt, daß diese Versuchsanordnung Fehlermöglichkeiten offen läßt. Zum Beispiel floß der Harn teilweise über Kotballen, stand dann 24 Stunden lang im offenen Behälter und hatte dabei genügend Zeit, zu unphysiologischen Konzentrationen einzudampfen. Solche Fehler sind jedoch bei jeder Messung in etwa gleichem Ausmaß vorhanden. Sie beeinflussen die Versuchsergebnisse nicht, da bei allen Versuchen nie der absolute Wert eines Ergebnisses interessierte, sondern nur der relative Wert im Verlauf der postischämischen Erholungsphase.

2. Histologische Untersuchungen

Für die histologischen und karyometrischen Untersuchungen wurden die Tiere einseitig (und zwar links) operiert. Sie kamen nach dem operativen Eingriff in Einzelkäfige und erhielten Futter und Wasser in beliebiger Menge angeboten. Wir ließen die Tiere folgende Zeiten überleben : 0, 3, 6, 12, 24, 36 Stunden, 2, 3, 4, . . . , 12, 18, 30 und 180 Tage. Nach der jeweiligen Manifestationszeit wurden sie durch Dekapitation getötet. Die geschädigte Niere wurde sofort entnommen und eine aus der Mitte herausgeschnittene, in einer Transversalebene liegende Scheibe nach Maximow fixiert. Bei vorbereitenden Versuchen waren einige Präparate in Formol und einige nach Maximow

fixiert worden. Der Vergleich dieser Präparate im mikroskopischen Schnitt zeigte, daß die Fixation nach Maximow ein wesentlich klareres Bild ergibt. Besonders die Kernmessungen waren bei diesen Schnitten leichter auszuföhren, als bei den Formol-fixierten Präparaten.

Gewebsfixation nach Maximow und Einbettung :

- 2 Stunden in 10 ml Formol + 100 ml Zenker-Stammlösung (= 2, 5 g Kaliumbichromat + 1 g Natriumsulfat + 5 g Sublimat + Aqua dest. ad 100, 0)
- über Nacht in fließendes Wasser
- 24 Stunden 70%iger Alkohol
- 3 bis 5 Tage 80%iger Alkohol + einige Tropfen Lugolscher Lösung
- 2 x 24 Stunden 96%iger Alkohol
- 2 x 24 Stunden absoluter Alkohol
- 2 x 24 Stunden Methylbenzoat
- 2 x 15 Stunden Benzol
- 30 Minuten Benzol-Paraffin bei $37-40^{\circ}\text{C}$
- 24 Stunden weiches Paraffin bei $42-44^{\circ}\text{C}$
- 60 Minuten hartes Paraffin bei $56-58^{\circ}\text{C}$
- ausgießen und erkalten lassen.

Von den so fixierten und eingebetteten Präparaten wurden ca. 8μ dicke Schnitte angefertigt, die nach drei verschiedenen Methoden gefärbt wurden :

- a) HE-(Hämatoxilin-Eosin-) Färbung
- b) PAS (Perjodsäure-Schiff-) Reaktion zur Darstellung von Kohlenhydrat-Proteinkomplexen.
- c) Goldner - Modifikation der Massonschen Trichromfärbung.

Zur Nomenklatur :

Von den unterschiedlichen Nomenklaturen benutzen wir die in Abb. 1 eingetragenen Namen für die einzelnen Abschnitte des Nephrons. Als Besonderheit der Anatomie der Rattenniere ist vielleicht erwähnenswert, daß sie nur eine Papille hat und demnach das Nierenbecken aus nur einem Kelch besteht.

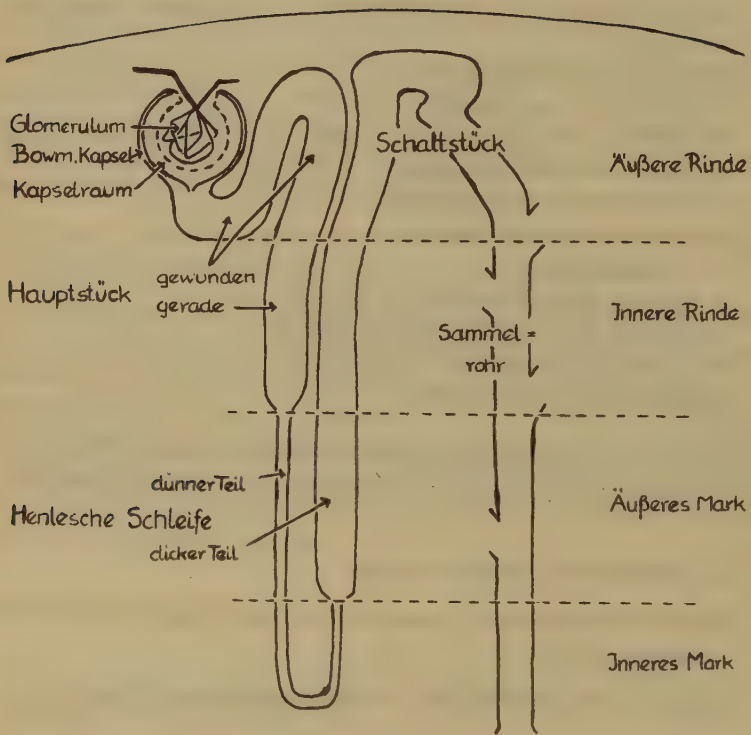


Abb. 1 Schematische Darstellung eines Nephron

3. Karyometrische Untersuchungen

Objekt und Umfang der Messungen und Berechnungen :

Zur karyometrischen Untersuchung wurden die im vorigen Abschnitt beschriebenen Präparate benutzt und zwar vorzugsweise die PAS-gefärbten Schnitte. Gemessen haben wir nur die Tubulusepithelien der Rinde, genauer gesagt die Kerne der gewundenen Hauptstücke, der geraden Hauptstücke und der Schaltstücke. Es wurden von allen Tieren in jedem dieser drei Tubulusabschnitte je zweihundert Kerne gemessen, der jeweilige Mittelwert daraus errechnet und in Abhängigkeit von der Manifestationszeit in ein Koordinatensystem eingezeichnet. Außerdem wurden die Verteilungskurven über den Mittelwerten miteinander verglichen.

Zur Sicherung der Statistik stellten wir folgende Berechnung an :

a) Standardabweichung :

$$\sigma_x = \pm \sqrt{\frac{(x - M)^2}{n}}$$

wobei x der gemessene Einzelwert, M der errechnete Mittelwert und n die Anzahl der Messungen ist, die zu dem Mittelwert führten.

b) Der mittlere Fehler des Mittelwertes :

$$\sigma_M = \frac{\sigma_x}{\sqrt{n}}$$

c) Signifikanz der Unterschiede der Mittelwerte :

Die Werte gelten als signifikant unterschiedlich, wenn ihre Differenz mehr als dreimal so groß ist wie die Differenz der Fehler der Mittelwerte σ_{diff} . Diese wird errechnet nach der Formel

$$\sigma_{\text{diff}} = \pm \sqrt{\sigma_{M_1}^2 + \sigma_{M_2}^2}$$

Bei positivem Ergebnis ist der jeweilige Unterschied mindestens auf dem 0,3%-Niveau der Verlässlichkeit signifikant (Henrysson, Haselhoff, Hoffmann).

Methodik der Zellkernmessung : Über die Technik der mikroskopischen Zellkernmessung finden sich in der Literatur viele Angaben. Jakobj schlägt vor, bei annähernd runden Kernen den Mittelwert zweier senkrecht aufeinander stehender Durchmesser als Kugeldurchmesser zu verwenden. Die Differenz der beiden Durchmesser soll aber nicht mehr als 14% betragen. Voss ermittelt planimetrisch die Fläche des Kernschnittes und verrechnet sie als Kugelschnittfläche. Puff gibt eine Formel an, in der er die Fläche und den größten Durchmesser verwertet. Häufig werden aus Fläche und Umfang oder aus mehreren Durchmessern Rotationsellipsoide als Kernvolumina errechnet (Müller-Lange, Eichner). Grundmann und Bach geben an, daß bei annähernd runden Kernen die Durchmesserbestimmung ebenso brauchbare Werte ergibt wie eine Flächemessung.

Wir interessierten uns, wie schon weiter oben betont, bei diesen Untersuchungen hauptsächlich für den Vergleich von Größen, nicht für deren absoluten Wert und glaubten deshalb, auf eine allzu komplizierte Meßmethode verzichten zu können. Wir variierten die Methode von Jakobj folgendermaßen :

- a) Es wurden nur annähernd runde Kerne verwertet (die Form scheint nach unseren Beobachtungen nicht von der Größe abhängig zu sein).
- b) Zur Messung diente ein Okularmikrometer, das am Mikroskoptubus unbeweglich festgeschrieben war.
- c) Von jedem Kern wurde nur ein Durchmesser gemessen und zwar der, der zufällig in der Laufrichtung des Mikrometerfadens lag.

Da immer 200 Kerne zu einem Mittelwert zusammengefaßt und nur annähernd runde Kerne gemessen wurden, glichen sich nicht nur die Meßungenauigkeiten aus, sondern es erübrigte sich auch die Messung von mehreren Durchmessern.

Bei der Aufstellung einer Verteilungskurve ergibt die Verwertung von 600 Kerndurchmessern ein ausreichend exaktes Ergebnis. Kurven aus nur 200 Werten ergeben einzeln betrachtet keine demonstrativen Bilder. Betrachtet man sie aber in der kontinuierlichen Aufeinanderfolge der Manifestationszeiten, so sind sie bei Überlegungen über die Volumenschwankungen durchaus brauchbar.

B. Ergebnisse

1. Das Verhalten der Diurese nach 20-minütiger Ischämie der Nieren

Normalwerte:

Fünf Tage lang wurden bei den noch gesunden Tieren Harnmessungen vorgenommen. Im Mittel ergaben sich folgende, für diese speziellen Versuchsbedingungen als Normalwerte zu bezeichnende Ergebnisse (fünf Tiere gemeinsam):

1. Ausscheidungsvolumen : 23,5 ml/die
2. Spezifisches Gewicht des Harns : 1,070
3. Ausgeschiedene Trockensubstanz : 1,60 g/die
4. Ausscheidung von Eiweiß im Urin war sowohl bei den gesunden, als auch bei den geschädigten Tieren in sehr wechselnder Deutlichkeit nachweisbar. Es ließ sich in dieser Form keine signifikante Befundänderung aufzeigen.

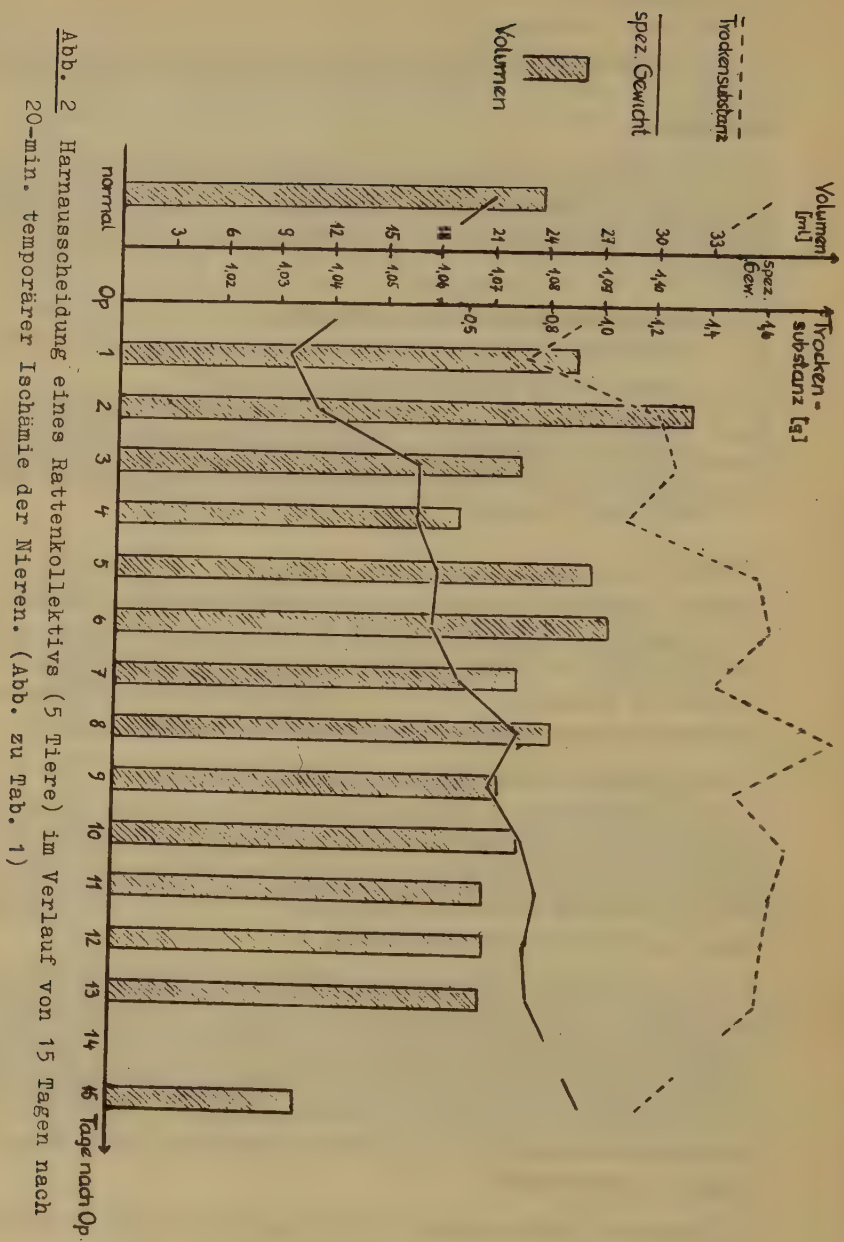
Versuchswerte :

Nach der Operation änderten sich die Befunde sehr wesentlich. Tab.1 zeigt die Ergebnisse der Harnmessungen am ersten bis vierzehnten Tag der Manifestationszeit. Die gleichen Werte sind in Abb. 2 graphisch dargestellt. Die vereinfachte Darstellung der Abb. 3 möge die Hauptbewegungslinien der gefundenen Ergebnisse deutlich machen und den Überblick erleichtern.

In dem graphischen Bild fällt die geringe Konzentration des Urins bei vermehrter Ausscheidung in den ersten Tagen auf. Am dritten Tag erscheint die Konzentrationsfähigkeit schon wieder gebessert, aber erst am siebten bis achten Tag nach der Operation sind wieder Normalwerte erreicht. Auffällig ist dabei das stufenweise Ansteigen der Konzentrationswerte über den dritten zum achten postoperativen Tag.

In der Darstellung des Ausscheidungsvolumens überlagern sich am ersten Tag zwei wichtige, gegenläufige Symptome zu einem indifferenten Bild. Die initiale Anurie oder Oligurie (Rotter-Lapp-Zimmermann) kommt durch die vor Ablauf von 24 Stunden einsetzende Polyurie nicht zur Geltung. Die Annahme, daß die hier dargestellte Urinmenge kein Normalharn ist, sondern der Harn einer kurzen polyurischen Phase, wird durch sein niedriges spezifisches Gewicht gestützt.

Die Kurve der Trockensubstanzausscheidung erreicht schon am fünften Tag



Zeit nach Op.	Volumen [ml]	Spezif. Gewicht	Trocken- subst.[g]
normal	23,5	1,070	1,60
1. Tag	25,5	1,032	0,72
2. "	32,0	1,037	1,20
3. "	22,5	1,056	1,27
4. "	19,3	1,056	1,09
5. "	26,5	1,060	1,58
6. "	27,5	1,059	1,62
7. "	22,5	1,064	1,43
8. "	24,5	1,075	1,85
9. "	21,5	1,070	1,51
10. "	22,5	1,076	1,70
11. "	20,8	1,079	1,65
12. "	20,8	1,077	1,61
13. "	20,7	1,078	1,59
Dursttag			
15.Tag	10,5	1,088	1,16

Tab. 1 Harnausscheidung eines Rattenkollektivs (5 Tiere)
nach 20-min. temporärer Ischämie der Nieren.
(Zahlenwerte zu Abb. 2 und 3)

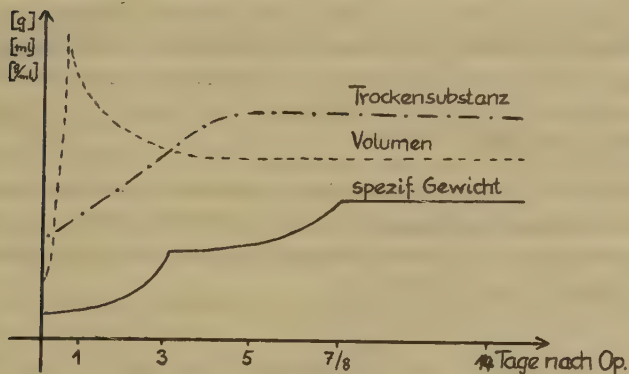


Abb. 3 Schematische Darstellung der in Abb. 2 ausgeführten Diuresekurven.

Normalwerte. Man muß jedoch die Frage nach ihrer Gültigkeit stellen. Es ist zu beachten, daß diese Kurve kein direktes Bild von der Nierenfunktion gibt, sondern ein rein rechnerisch gewonnenes Gebilde ist. Das wird deutlich bei der Betrachtung der Werte des zweiten Tages. Hier ergänzt sich die pathologisch verminderte Konzentration mit dem ebenfalls pathologisch vermehrten Volumen zu einem scheinbar schon wieder recht günstigen Trockensubstanz-Wert, obwohl die anderen Befunde (siehe auch histologische und karyometrische Befunde) zu diesem Zeitpunkt noch erhebliche Schädigungen beweisen. Trotzdem scheint diese Kurve ihren Sinn zu haben, wenn sie im Zusammenhang mit den anderen betrachtet wird. - So ist anzunehmen, daß am fünften oder sechsten Tag trotz nicht ganz wiederhergestellter Konzentrationsfähigkeit die Ausscheidung der harnpflichtigen Substanzen wieder ausreichend ist.

Befunde eines Einzeltieres :

Wenn auch einerseits individuelle Schwankungen der physiologischen Reaktionen durch Untersuchung an einem Tierkollektiv vermindert werden, so können dabei andererseits bedeutsame Befunde verwischt werden. Die graphische Darstellung der Ergebnisse von Diuresemessungen bei einem einzelnen doppelseitig operierten Tier, ergibt folgendes Bild (Abb. 4) :

In der ersten Hälfte ist der Verlauf der Kurven mit dem der oben gezeigten identisch. Auch hier steigt das spezifische Gewicht über den dritten zum siebten Tag in zwei Stufen, es fällt aber im weiteren Verlauf wieder auf Werte, wie sie am dritten und vierten Tag gemessen wurden, ab, um erst am zwölften Tag wieder Normalwerte zu erreichen. Gleichzeitig damit setzt eine zweite polyurische Phase ein, die auch bis zum zwölften Tag anhält. Die ausgeschiedene Trockensubstanz wird dadurch in etwa gleichbleibender Menge erhalten.

Die Kurvenschwankungen bei etwa neun bis zehn Tagen Manifestationszeit, die in den Kollektivmessungen nicht zum Ausdruck kamen, sind als Befundverschlechterung zum gleichen Zeitpunkt in den histologischen und karyometrischen Beobachtungen zu finden.

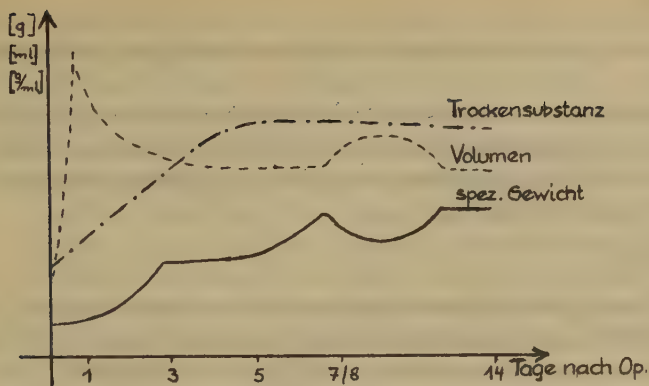


Abb. 4 Schematische Darstellung der Diureseschwankungen nach 20-min. temporärer Ischämie der Nieren. Messung an einem einzelnen Tier im Verlauf der 14 Tage nach Operation.

2. Die histologischen Veränderungen zu verschiedenen Manifestationszeiten

In dem histologischen Bild fanden sich folgende Veränderungen, die hier zunächst unabhängig von ihrer Bedeutung in zusammenhängender Liste aufgezählt sind :

Blutverteilung :

1. Verstärkte oder verminderte Füllung der Kapillaren des Glomerulum und des Interstitiums.
2. Vereinzelt auftretende hämorrhagische Herde und Rundzelleninfiltrate im Parenchym.

Nephrohydrose :

3. Erweiterung des Raumes zwischen Bowmanscher Kapsel und Glomerulum.
4. Tubulusedilatation. Es sind dabei nie alle Tubulusanteile gleichmäßig befallen. Am häufigsten waren die Schaltstücke erweitert. Es war praktisch nie eine Veränderung des Lumens der geraden Anteile des Hauptstücks zu beobachten.

Tubulusinhalte :

5. Haupt- und Schaltstück enthielten zum Teil massenhaft hyaline, wie Eiweißtropfen aussehende Kügelchen, die in allen Größen bis zu doppelter Zellkerngröße vorkamen. Häufig lagen sie so den Epithelzellen an, als seien sie gerade durch apokrine Sekretion aus ihnen hervorgegangen. Beieinander lagernde Kügelchen fließen nicht ohne weiteres zusammen, sondern verformen sich zu vieleckigen Körpern.
6. Ungeformte Eiweißfetzen (Zelltrümmer).
7. Hyaline und granulierten Zylinder.
8. Vereinzelt Erythrozyten in Bowmanscher Kapsel und Tubuluslumen.
9. Freie Zellen im Tubulus. Besonders in beiden Schenkeln der Henleschen Schleifen, aber auch im Sammelrohr fanden sich Zellen mit kleinen, dichten, pyknotisch wirkenden Kernen. Manche dieser Zellen hatten zwei oder drei Kerne. Es fiel auf, daß im gleichen Präparat ähnlich aussehende Zellen zur Hälfte in der Tubuluswand steckten und zur anderen Hälfte ins Lumen ragten.

Zustand des Epithels :

10. Vergrößerte Stäbchenstruktur bei Haupt- und Schaltstücken.
11. Vakuoläre Degeneration : Einlagerungen von optisch leeren Vakuolen, die perinukleär beginnen und sich auf die ganzen Zellen, hauptsächlich der Haupt- und Schaltstücke, ausbreiten.
12. Bläsige Epithelaufhellung bei Schaltstück und Sammelrohr.
13. Speicherung von rückresorbiertem Eiweiß in den Epithelzellen.
14. Das Epithel des dicken Schenkels der Henleschen Schleife, das normalerweise hell aufgebläht und zum Lumen hin hinter dünner Zellwand grobbläsig verquollen wirkt, ist in manchen Präparaten flacher, dichter und deutlich begrenzt.
15. Abgeflachtes Sammelroherepithel bei vermehrtem Interstitium im Mark.
16. Pyknotische Zellkerne. Einzelne (selten nebeneinander mehrere) nekrotische Zellen mit strukturlosem, leicht azidophilem Zytoplasma.

17. Kollapszellen. Mit dieser Bezeichnung belegen wir solche Zellen, die in Kern und Plasma verdichtet und kleiner erscheinen, aber nicht den typischen Eindruck von nekrotischen Zellen machen. Sie fallen schon in einem früheren Präparat auf, hauptsächlich aber erst in solchen mit mehrtägiger Manifestationszeit. Möglicherweise handelt es sich um teilgeschädigte Zellen, die dann ins Tubuluslumen abgestoßen werden, wie es unter Nr. 9 dieser Liste beschrieben ist.
18. Mitosen. Eindeutig pathologische Mitosebilder wurden nicht gefunden.
19. Vereinzelte doppelkernige Zellen. Da die Epithelzellen in einzelnen Nephronabschnitten untereinander verzahnt sind (C. Polster) und deshalb kaum erkennbare Zellgrenzen haben, und weil Überlagerungseffekte oft nicht auszuschließen sind, ist es schwer, zwei Kerne mit Sicherheit einer einzigen Zelle zuzuordnen. - Eine Welle amitotischer Kernteilungen, mit vielen doppelkernigen Zellen, wie es Cain 6-8 Stunden nach 60-minütiger Ischämie fand, läuft hier jedoch sicher nicht ab.

Die wichtigsten und in ihrem zeitlichen Ablauf gut verfolgbaren Veränderungen sind in Tabelle 2 in Abhängigkeit von der Manifestationszeit verzeichnet.

Auf dieser Tabelle fällt die Zweiteilung der Befunde auf. Der erste Schwerpunkt der Schädigung liegt zwischen 6 und 24 Stunden Manifestationszeit: Nephrohydropse (peripher beginnend), degenerative Erscheinungen an den Zellen, Eiweißausscheidung und Abflachung des Sammelrohrepithels (als Zeichen mangelhaften Konzentrationsvermögens) bestimmen das Bild. - Mit beginnender Besserung der Befunde setzt, zunächst am gewundenen Hauptstück und der Henleschen Schleife, eine Mitosewelle ein, die sich am zweiten Tag über das ganze Nephron ausdehnt und am dritten Tag beendet ist.

Betrachtet man die Präparate des 5., 6., 7. Tages, so gewinnt man den Eindruck, daß die Niere den Schaden überwunden und bis auf kleine, unbedeutende Reste ihr Parenchym wiederhergestellt hat.

Am 8. Tag folgt dieser scheinbar eingetretenen Wiederherstellung eine erneute, leichte Erweiterung der Bowmanschen Kapseln. Außerdem ist das Sammelrohrepithel abgeflacht, das Mark erscheint inaktiv. In den folgenden beiden Tagen verstärken sich diese Veränderungen, es kommt zu der Kapselerweiterung eine deutliche, wenn auch nicht allzu stark ausgeprägte Nephrohydropse hinzu. Vereinzelt erscheinen erneut Zylinder in den Tubuli. Besonders im inneren und äußeren Mark zeigen sich die nekroseähnlichen

Zeit nach Operation norm 0 3h 6h 12h 24h 36h 2Tg. 3T. 4.T. 5.T. 6T. 7T. 8T. 9T. 10T. 11T. 12T.

Kapselerweiterung	+	++	(+)	(+)						(+)	+	+	(+)
Gewund.H.st		+	(+)	+	+								(+)
Ger. Hauptst.													
Tubulus- erweiterg.													
Hentl.Schl.													
Schalstück		++	++	++	++	++	++	++	++				++
Sammelrohr													++
"Eiweißkugeln"	(+)	+++	+++	+									
Zylinder		(+)	+++	+	+	++	+		(+)				+
Vakuoläre Degeneration		++	+++	++	++	+	+	+	(+)	(+)			
Veränderungen des Sammelrohr-Epithels		++	+	++	+	+	+	+				+	
Pyknotische Kerne, Nekr.			++	+	++	+	(+)		(+)				(+)
Gewund.H.st.						++	+						
Ger. Hauptst.						++	++		(+)				
Hentl.Schl.													
Schalstück						++	+						
Sammelrohr						+	+		(+)				

Tab. 2 Morphologische Befunde am Tubulussystem und seinen Epithelien im Ablauf einer Wiedererholungszeit von 12 Tagen nach 20-min. temporärer Ischämie der Nieren.

Kollapszellen. Am 11. Tag gehen die Befunde wieder zurück und sind bereits am 12. Tag praktisch nicht mehr zu sehen.

Zusammengefaßt sind zwei Phasen pathologischer Erscheinungen zu unterscheiden :

1. -4. Tag : Hauptschädigungs- und Reparationsphase,

9. -11. Tag: Leichte Schädigungsphase. Kein Zellersatz durch Mitosen.

Als die hautsächlichen Zeichen der Schädigung waren anzusehen :

Eine von peripher nach zentral sich ausbreitende Nephrohydropse, vakuoläre und hyalintropfige Degeneration bei den Zellen der Rinde, Verdichtung des Zytoplasmas und hyalintropfige Degeneration bei den Zellen des Markes, Untergang einzelner Zellen.

3. Die Bewegung der Zellkerngröße der Rindenepithelien

Messungen und Berechnungen :

Die Ergebnisse der Zellkernmessungen liegen zunächst in den Größeneinheiten des benutzten Okularmikrometers vor. Es wurden damit nur ganze Zahlenwerte abgelesen. Sie bewegten sich bei den vorliegenden Messungen zwischen minimal 40 und maximal 80 Mikrometer-Einheiten (ME). Die Eichung des hierbei verwandten Systems "Mikroskop - Okularmikrometer" ergab :

$$100 \text{ ME} = 8,92 \mu$$

Grundsätzlich wurden auch alle Berechnungen in ME durchgeführt und nur, wo es notwendig erschien, wurden außerdem der Wert in μ oder μ angegeben. Um in etwa die Größenordnung zu zeigen, um die es sich dabei handelt, nennt Tab. 3 die Maße, um die sich die Mittelwerte der Kerngrößen in den drei Tubulusabschnitten bewegen.

Im Einzelnen ergaben sich für die verschiedenen Manifestationszeiten an den drei Tubulusteilen folgende Meß- und Berechnungsergebnisse für Durchmesser, Volumen, Standartabweichung und mittleren Fehler des Mittelwertes : Tabellen 4, 5 und 6.

Mittelwertskurven :

Graphisch dargestellt ergibt sich für die Kerngrößenschwankungen in Volumenwerten das in Abb. 7 gezeigte Bild.

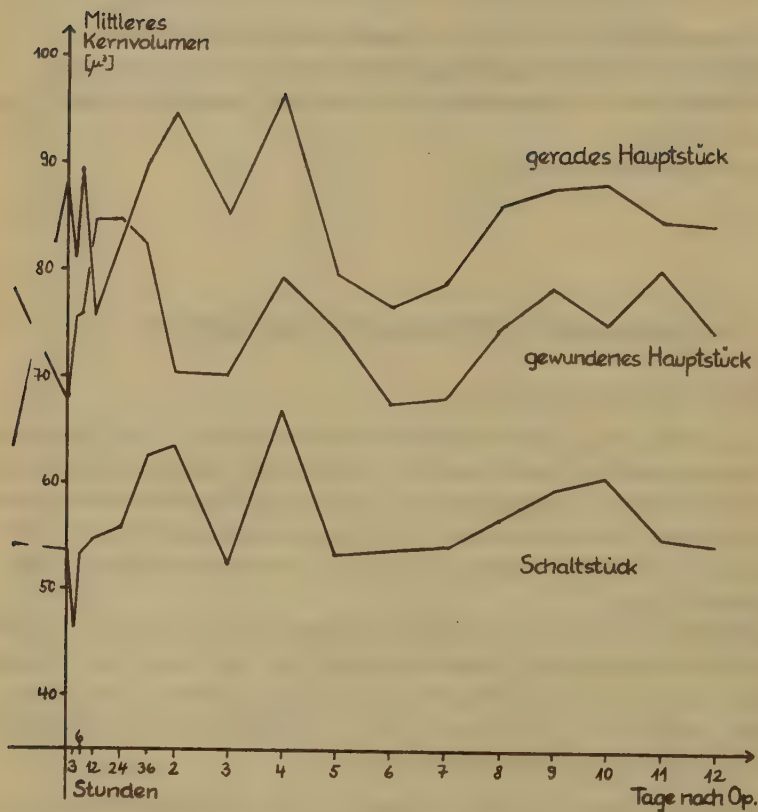


Abb. 7 Veränderungen der mittleren Zellkerngrößen an Haupt- und Schaltstücken von Rattennieren im Ablauf von 12 Tagen nach 20-min. temporärer Ischämie.

<u>Tab. 3</u>	Durchmesser [ME]	entspricht etwa [μ]	entspricht Volumen [μ^3]
gewundenes Hauptstück-	um 59	5,20	76
gerades Hauptstück-	um 61	5,44	84
Schaltstück- Epithelzellk.	um 53	4,71	55

Durchschnittliche Zellkerngröße der Haupt- und Schaltstücksepithelien von Rattennieren.

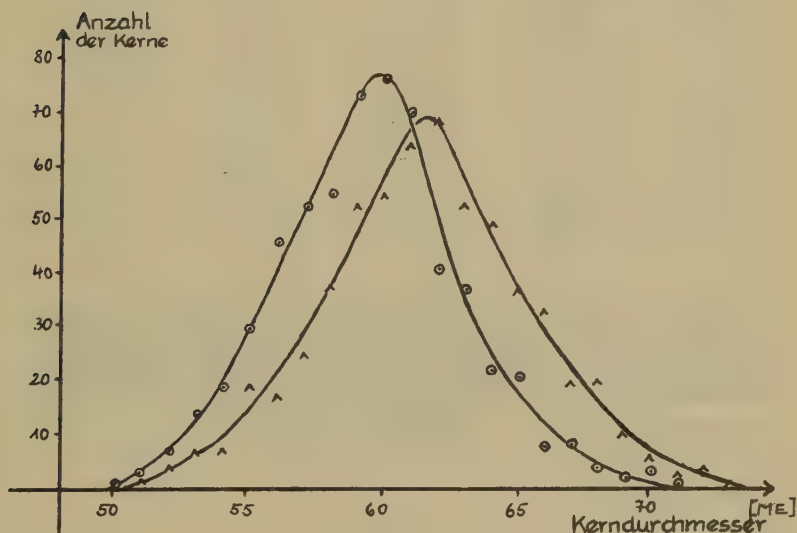


Abb. 8 Gerades Hauptstück: Kerngrößen-Verteilung in verschiedenen Kernschwellungsphasen (keine Mitosen).

⊙ ⊙ 6. Tag nach Op., mittlerer Durchmesser 59,1 ME

^ ^ 9. Tag nach Op., mittlerer Durchmesser 61,8 ME

M-Zeit	Durchm. [ME]	Volumen [μ ³]	σ _x [ME]	σ _M [ME]
normal	59,5	78,3	± 3,59	± 0,28
0	56,8	68,0	± 3,87	± 0,27
3 h	58,9	75,9	± 3,72	± 0,266
6 h	58,9	75,9	± 4,13	± 0,295
12 h	61,1	84,8	± 4,27	± 0,305
24 h	61,1	84,8	± 3,90	± 0,28
36 h	60,5	82,2	± 4,79	± 0,34
2 Tage	57,7	70,5	± 4,16	± 0,30
3 "	57,6	70,1	± 3,90	± 0,28
4 "	59,8	79,4	± 4,16	± 0,30
5 "	58,5	74,4	± 3,74	± 0,27
6 "	56,6	67,3	± 3,78	± 0,27
7 "	56,8	67,9	± 3,78	± 0,27
8 "	58,5	74,4	± 4,14	± 0,30
9 "	59,5	78,3	± 3,91	± 0,28
10"	58,7	75,1	± 3,38	± 0,24
11"	60,9	79,8	± 3,88	± 0,28
12"	58,5	74,4	± 3,66	± 0,26

Tab. 4 Mittelwerte, Standardabweichungen (σ_x) und mittlere Fehler der Mittelwerte (σ_M) von Kerngrößenmessungen an den gewundenen Hauptstücken von Ratten- nieren nach 20-min. temporärer Ischämie.

M-Zeit	Durchm. [ME]	Volumen [μ^3]	σ_x [ME]	σ_M [ME]
normal	55,5	63,5	$\pm 3,18$	$\pm 0,23$
0	62,0	88,5	$\pm 3,76$	$\pm 0,27$
3 h	60,2	81,0	$\pm 3,50$	$\pm 0,25$
6 h	62,3	89,8	$\pm 4,08$	$\pm 0,29$
12 h	58,9	75,9	$\pm 3,39$	$\pm 0,24$
24 h	60,7	82,1	$\pm 3,57$	$\pm 0,25$
36 h	62,3	89,8	$\pm 3,48$	$\pm 0,25$
2 Tage	63,4	94,7	$\pm 3,99$	$\pm 0,29$
3 "	61,2	85,2	$\pm 4,13$	$\pm 0,295$
4 "	63,8	96,5	$\pm 3,64$	$\pm 0,26$
5 "	59,9	79,8	$\pm 3,89$	$\pm 0,28$
6 "	59,1	76,7	$\pm 3,77$	$\pm 0,27$
7 "	59,6	78,7	$\pm 3,19$	$\pm 0,23$
8 "	61,4	86,1	$\pm 4,22$	$\pm 0,31$
9 "	61,8	87,7	$\pm 3,95$	$\pm 0,28$
10"	61,9	88,1	$\pm 3,83$	$\pm 0,27$
11"	61,1	84,8	$\pm 3,88$	$\pm 0,28$
12"	61,0	84,3	$\pm 3,78$	$\pm 0,27$

Tab. 5 Mittelwerte, Standardabweichungen (σ_x) und mittlere Fehler der Mittelwerte (σ_M) von Kerngrößenmessungen an den geraden Hauptstücken von Rattennieren nach 20-min. temporärer Ischämie.

M-Zeit	Durchm. [ME]	Volumen [μ^3]	σ_x [ME]	σ_M [ME]
normal	52,7	54,4	$\pm 3,56$	$\pm 0,25$
0	52,5	53,8	$\pm 4,30$	$\pm 0,31$
3 h	50,0	46,4	$\pm 3,89$	$\pm 0,28$
6 h	52,3	53,2	$\pm 3,50$	$\pm 0,25$
12 h	52,8	54,7	$\pm 3,42$	$\pm 0,23$
24 h	53,1	55,6	$\pm 3,58$	$\pm 0,26$
36 h	55,2	62,5	$\pm 4,14$	$\pm 0,30$
2 Tage	55,5	63,5	$\pm 4,63$	$\pm 0,33$
3 "	52,0	52,2	$\pm 3,88$	$\pm 0,28$
4 "	56,5	66,9	$\pm 4,27$	$\pm 0,31$
5 "	52,3	53,2	$\pm 4,02$	$\pm 0,29$
6 "	52,4	53,6	$\pm 3,09$	$\pm 0,22$
7 "	52,6	54,1	$\pm 3,09$	$\pm 0,22$
8 "	53,4	56,6	$\pm 4,00$	$\pm 0,29$
9 "	54,3	59,5	$\pm 4,61$	$\pm 0,36$
10 "	54,6	60,5	$\pm 3,89$	$\pm 0,27$
11 "	52,9	55,0	$\pm 3,44$	$\pm 0,25$
12 "	52,7	54,4	$\pm 3,93$	$\pm 0,28$

Tabelle 6 Mittelwerte, Standardabweichungen (σ_x) und mittlere Fehler der Mittelwerte (σ_M) von Kerngrößenmessungen an den Schaltstücken von Rattennieren nach 20-min. temporärer Ischämie.

Nach unregelmäßigen Schwankungen in den ersten Stunden setzt sich in allen drei Kurven die Tendenz zur Volumvergrößerung durch. Beim gewundenen Hauptstück erreicht sie ein plateau-artiges Maximum zwischen 12 und 36 Stunden Manifestationszeit. Bei den zwei anderen Stücken ist erst nach 18 Stunden ein spitzgipfliges Maximum erreicht. Das nun folgende Absinken des Volum Mittelwertes geht auf ganzer Linie parallel mit dem Beginn der Mitosewelle, nämlich beim gewundenen Hauptstück im 36-Stunden-Präparat, beim geraden Hauptstück und Schaltstück aber erst im 48-Stunden-Präparat. Vom dritten zum vierten Tag steigen die Volumina wieder an, um zum fünften und sechsten Tag wieder entscheidend abzufallen. Am achten Tag setzt eine erneute Volumzunahme ein, die aber wesentlich geringer ist als die erste und um etwa den elften Tag wieder auf Normalwerte zurückgeht.

Die erste Frage ist : Sind die Unterschiede der Kerngrößen statistisch signifikant. Dabei ist es nicht notwendig, daß alle benachbarten Werte sich gegeneinander signifikant unterscheiden. Aber jeder Extrempunkt der Kurve muß gegenüber dem nächstfolgenden diese Bedingungen erfüllen. Die Tabellen 7, 8 und 9 belegen die Signifikanz der entscheidenden Volumwerte gegeneinander. Der niedrige Volumwert des dritten Tages ist durch Kontrollversuche zusätzlich gesichert.

Verteilungskurven :

Betrachtet man den jeweiligen Anteil der Kerne verschiedener Größen an der Gesamtkernmenge, so erweist sich, daß die normale Verteilungskurve eingipflig ist (Bucher-Gailloud). Es gibt also offensichtlich keine Kerne mit doppeltem oder halbem Chromosomensatz. Die entsprechenden Stellen auf der Abszisse werden von der Kurve nicht einmal erreicht.

Im Verlauf der Kernschwellung findet sich kein Anzeichen für Endomitosen, sondern die Verteilungskurve schiebt sich als Block nach rechts. Abb. 8 zeigt als Beispiel Verteilungskurven aus verschiedenen Kernschwellungsphasen.

Im Ablauf der Mitosewelle zeigt sich beim Betrachten der nebeneinander liegenden Verteilungskurven, daß sich vor Beginn der Mitosen an einer Stelle der Kurve, die etwa dem $1\frac{1}{2}$ fachen Volumen eines Normalkerns entspricht, ein terrassenförmiger zweiter Schwerpunkt herausbildet. Direkt nach der Mitose ist die gleiche Terrasse zu sehen, nun aber auf der anderen Seite der Kurve, bei etwa $\frac{3}{4}$ Normalvolumen. Am vierten Tag sind diese Unebenheiten wieder ausgeglichen. Abb. 9 zeigt als Beispiel die Verteilungskurven der Kerne der geraden Hauptstücke im Ablauf der Mitosewelle.

Intervall	Durchmesser-Differenz/ME	$3 \times \frac{\sigma}{[ME]}$ diff.	signifikant
norm.-12 h	1,6	1,214	+
12 h -48 h	3,4	1,295	+
2. - 4.Tag	2,1	1,274	+
4. - 6.Tag	3,2	1,211	+
6. -10.Tag	2,1	1,083	+
10.-12.Tag	0,2	1,062	Ø

Tab. 7 Gewundenes Hauptstück

Intervall	Durchmesser-Differenz/ME	$3 \times \frac{\sigma}{[ME]}$ diff.	signifikant
norm.-2.T.	7,9	1,110	+
2.-3.Tag	1,8	1,253	+
3.- 4."	2,4	1,191	+
4.- 6."	4,7	1,125	+
6.-10."	2,8	1,146	+
10-12."	0,9	1,146	Ø

Tab. 8 Gerades Hauptstück

Intervall	Durchmesser-Differenz/ME	$3 \times \frac{\sigma}{[ME]}$ diff.	signifikant
norm.-2.T.	2,8	1,242	+
2. - 3.Tag	3,5	1,299	+
3. - 4."	4,5	1,253	+
4. - 6."	4,1	1,140	+
6. -10."	2,4	1,046	+
10.-12."	1,9	1,167	+

Tab. 9 Schaltstück

Tabellen 7, 8 und 9

Signifikanzberechnung der Kerngrößenunterschiede innerhalb der entscheidenden Zeitintervalle nach 20-minütiger temporärer Ischämie an Rattennieren.

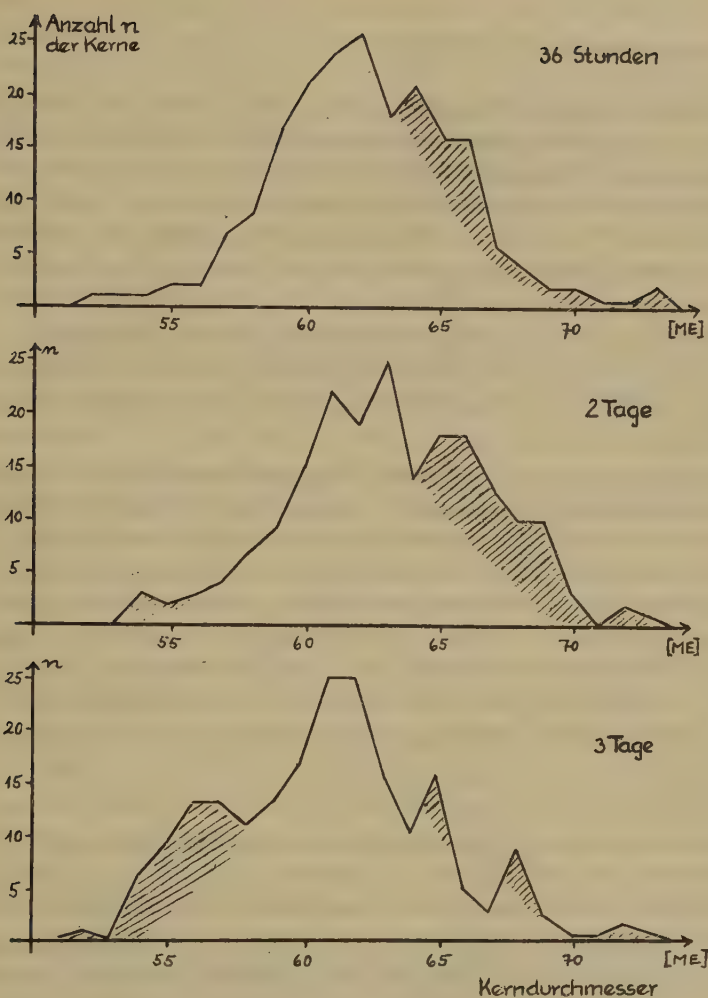


Abb. 9 Kerngrößen-Verteilung im geraden Hauptstück von Rattennieren bei 36 Std., 2 Tagen und 3 Tagen Manifestationszeit nach 20-min. temporärer Ischämie. Die schraffierten Flächen zeigen die durch eine Mitosewelle bedingten Umlagerungen.

III. Diskussion

=====

A. Zusammenfassung der Befunde

Die Fixierung biologischer Vorgänge mit den Mitteln der Naturwissenschaft "Messen und Wägen" wird immer ein Versuch bleiben. Es stellen sich dem zwei Hauptprobleme entgegen. Erstens : Es ist kein lebendes Individuum einem zweiten mathematisch exakt gleichzusetzen. Zweitens : Man erhält jeweils nur das Bild eines kurzen Augenblicks. Durch Interpolation zwischen mehreren dieser Augenblicksbilder läßt sich nur behelfsmäßig die kontinuierliche Bewegung, die Fortentwicklung als eine Grundeigenschaft des Lebendigen nachbilden. - Eine solche Interpolation müssen wir anstreben, wenn wir die drei Reihen von Momentaufnahmen, die die beschriebenen Experimente darstellen, als den Film einer biologischen Entwicklung betrachten wollen.

Der Ausgangspunkt ist die ischämische Schädigung von Rattennieren durch totale Absperrung der Blutzirkulation in diesem Organ für zwanzig Minuten. Nach Wiedereröffnung des Kreislaufes sind zwei divergierende Vorgänge, die sich zeitlich sicher zum Teil überschneiden, zu unterscheiden : Erstens die morphologische Manifestierung des Schadens, zweitens die Wiedererholung des geschädigten Gewebes. "Wiedererholung" ist hier als Gegensatz zur "echten Regeneration" zu betrachten (Cain); denn es ist unter den vorliegenden Versuchsbedingungen kein Gewebe zu Grunde gegangen, das regeneriert werden müßte. Lediglich einige Einzelzellen sind zu ersetzen.

0 bis 6 Stunden :

In den ersten sechs Stunden überwiegt ganz erheblich die Manifestierung des Schadens in den Zellen und in dem Gewebe. Die Funktion ist weitgehend aufgehoben; es wird kein Harn ausgeschieden. Die Kerne sind klein, also nicht reaktionsbereit und nicht stoffwechselaktiv. Die Zellstruktur gerät sichtbar in Unordnung. Es bildet sich die sogenannte vakuoläre Degeneration heraus und die basalen Stäbchen der Haupt- und Schaltstücke verlieren ihre regelmäßige Anordnung. Vereinzelt sind pyknotische Zellkerne zu finden. Außerdem zeigt sich Eiweiß in verschiedenster Form in den Harnkanälchen, deren Lumen sich bereits zu erweitern beginnt.

6 bis 24 Stunden :

Bis zu einer Manifestationszeit von 24 Stunden ändert sich das Bild folgendermaßen : Die Funktion der Niere kommt in Gang, ist aber noch mangelhaft; es wird eine große Menge unkonzentrierten Harns produziert. An den Zellkernen zeigt sich zuerst die Tendenz des Gewebes zur Wiedererholung; sie vermehren nämlich ihr Volumen, was nach dem weiter unten Ausgeführten als Zeichen vermehrter Proteinsynthese zu deuten ist. Die Zellen selbst zeigen keine prinzipiell neuen Veränderungen ihrer Struktur. Die Eiweißausscheidung verringert sich. Die anfängliche leichte Tubulusdilatation wird zur ausgeprägten Nephrohydropse.

2. bis 4. Tag :

Die Zeit zwischen 36 Stunden und vier Tagen Manifestationszeit steht ganz im Zeichen der Wiedererholung. Die Funktion normalisiert sich, die Konzentrationsfähigkeit steigt an. Das histologische Bild zeigt ein langsames Zurückgehen der Nephrohydropse und Verminderung der Eiweißausscheidung. In der Regellosigkeit der gestörten Zellstruktur kommt wieder Ordnung und die Vakuolen werden seltener. Als auffälligstes Merkmal läuft in dieser Zeit eine Mitosewelle über das ganze Nephron. Die Kerngröße, die bis zum Beginn der Mitosen zugenommen hatte, nimmt entsprechend wieder ab. Die Tatsache, daß sie sofort wieder zunimmt, beweist, daß der vierte Tag noch erhöhte Stoffwechselaktivität erfordert.

5. bis 7. Tag :

Anders ist es zwischen dem fünften und siebten postoperativen Tag. Die Harnausscheidung und -konzentration ist nahezu normal, die Kerngröße der Tubulusepithelien wieder vermindert, das gesamte histologische Bild kaum von dem einer normalen Niere zu unterscheiden.

8. bis 11. Tag :

Das Wiederauftreten pathologischer Befunde zwischen dem achten und elften Tag der Manifestationszeit zeigt im Prinzip die Veränderungen der akuten Phase in abgeschwächter Form. Auf die Funktion der Niere scheint es sich nicht mehr deutlich auszuwirken, da in den Diuresemessungen des Rattenkollektivs ein Rückfall nicht erkennbar ist. Daß die Nachschwankung aber im Einzelfall so stark sein kann, daß auch die Funktion des Organs erneut beeinträchtigt ist, wird durch die Ergebnisse bei der einzelnen beobachteten Ratte wahrscheinlich gemacht.

B. Besprechung der Befunde

1. Funktionsstörung

Die Kardinalsymptome der Funktionsstörung sind initiale Anurie mit nachfolgender Polyurie und Isostenurie. Schwellung der Glomerulumdeckzellen einerseits und eine Insuffizienz der Hauptstücksepithelien andererseits sollen für diesen Modus der Funktionsabweichung verantwortlich sein (Rotter-Lapp-Zimmermann). Wenn nach einigen Stunden der Harnfluß wieder in Gang kommt, sind die Hauptstücksepithelien noch nicht in der Lage, das Primärharnvolumen wesentlich zu verringern. Dies führt zu einem vermehrten Flüssigkeitsstrom in den mittleren und distalen Tubulusabschnitten, wodurch eine Konzentrierung im Haarnadel-Gegenstromsystem nicht zustande kommt. Zur genauen Besprechung der Pathogenese, sowohl der funktionellen als auch der im Folgenden beschriebenen histologischen Befunde, verweise ich auf die Veröffentlichung von Rotter, Lapp und Zimmermann über "Pathogenese und morphologisches Substrat des 'akuten Nierenversagens' und seine Erholungszeit".

2. Histologische Befunde

Parallel zu den funktionellen konnten auch in den histologischen Untersuchungen die Befunde der genannten Arbeit bestätigt und ergänzt werden. Wie weiter oben ausführlicher beschrieben, waren Nephrohydropse, vakuolige Zeileinlagerung, Einzelzellnekrosen und eine zwischen 36 und 48 Stunden Manifestationszeit ablaufende Mitosewelle die auffälligsten Symptome.

Zur Pathogenese der Nephrohydropse ging auch aus den vorliegenden Beobachtungen hervor, daß sie nicht als Folge eines Tubulusverschlusses durch Eiweißzylinder angesehen werden kann. Weder stand die Menge der vorhandenen Zylinder zum Grad der Dilatation in einem vergleichbaren Verhältnis, noch konnte in der zeitlichen Aufeinanderfolge der beiden Erscheinungen eine Abhängigkeit gesehen werden.

Die Lokalisation der Nekrosen, Mitosen und Zytoplasmaveränderungen bestätigt die besondere Empfindlichkeit der Hauptstückszellen gegenüber Sauerstoffmangel. Darüber hinaus stellten wir eine erhebliche Mitbeteiligung der dicken Anteile der Henleschen Schleifen fest. Es war zeitweilig eine Verdichtung des Zytoplasmas dieser Zellen sichtbar, außerdem waren die

geschilderten Kollapszellen in diesem Tubulusanteil bevorzugt zu finden. Die Mitosewelle erreichte hier gleiche Intensität wie an den Hauptstücken. Aus der erheblichen Anfälligkeit gegen die ischämische Noxe muß man schließen, daß auch die Zellen des dicken Schleifenschenkels einen sehr anspruchsvollen und verletzlichen Stoffwechsel haben.

Amitotische oder pathologische Kernteilungen wurden in keinem der Präparate beobachtet. Bei den karyometrischen Befunden ist auch für den Ablauf von Endomitosen kein Anhaltspunkt zu finden. Das zeigt, daß trotz der erheblichen pathologischen Befunde das Organ in seinem Bestand nicht gefährdet war, sondern durch einen geregelten, nicht überstürzten Reparationsvorgang zur Heilung kommen konnte. Von Versuchen mit 60-minütiger Ischämie berichtet dagegen Cain, daß eine Welle amitotischer Teilungen und etwas später viele pathologische Mitoseformen und Endomitosen zu beobachten waren.

Die Veränderungen des histologischen Bildes sind bis zum vierten Tag der Manifestationszeit deutlich sichtbar, der fünfte bis siebte Tag zeigt annähernd normale Befunde. Vom achten bis elften Tag nach Operation findet sich eine erneute Verschlechterung des histologischen Befundes. Auf diesen zweiphasischen Verlauf werden wir noch zurückkommen.

3. Karyometrische Ergebnisse

Die Kerngrößenmessung ist nicht mit anderen morphologischen Betrachtungen vergleichbar, sondern sie ist als direkte Methode zur Bestimmung des Funktionszustandes des Zellkerns anzusehen. Benninghoff prägte die Bezeichnung "funktionelles Kernödem". In Ruhe befindliche Kerne sind klein, und kleine Kerne sind wenig reaktionsbereit. Wird erhöhte Stoffwechselaktivität gefordert, so schwillt der Kern beträchtlich an. Altmann fand an Pankreaszellen kurzdauernde Kernan- und Kernabschwellungen im Verlauf eines Proteinsynthese- und Sekretionszyklus. Oehlert und Schulze haben diese Vorgänge autioradiographisch untersucht. Sie fanden dabei eine direkte Proportionalität zwischen Kerngröße und Größe der Proteinsynthese im Kern. Da der DNS-Gehalt aller Kerne einer Größenklasse gleich ist (Davidson), kommt als Möglichkeit für derartige Veränderungen in erster Linie eine verstärkte Hydratation der Chromosomen in Frage (Pollister nach Oehlert und Schulze, Altmann-Grundmann).

Die Reihenfolge der Geschehnisse wäre also diese : Schädigung → vermehrter Proteinbedarf → Hydratation der Chromosomen und Kernschwellung → Proteinsynthese → Rückgang der Schwellung, sobald der Bedarf gedeckt oder die Zelle nicht mehr zur Synthese befähigt ist.

Mit Hilfe dieser Erkenntnisse ist der scheinbar regellose Verlauf der drei Kernvolumenkurven (Abb. 7) folgendermaßen zu erklären :

Die anfängliche Volumenverminderung ist durch die Inaktivität des akuten Schockzustandes bedingt. Es beginnt dann eine Phase, in der infolge der angestrebten Zellreparation eine Mobilisierung aller Kräfte zur Proteinsynthese erforderlich wird, das heißt vermehrte Hydratation der Chromosomen und damit Kernschwellung. Diese Kernschwellungsphase ist erst am fünften Tag beendet. Eine nur scheinbare Unterbrechung tritt am dritten Tag dadurch ein, daß ein Teil der Kerne kurz vor diesem Zeitpunkt eine mitotische Teilung durchgemacht hat. Dies führt zu einer erheblichen Senkung der Mittleren Kerngröße und täuscht eine allgemeine Kernabschwellung vor. Diese Kernteilung könnte als Zeichen einer zusätzlichen Produktivitätssteigerung angesehen werden, außerdem wäre sie als Ersatzleistung für die in Nekrose übergegangenen Zellen deutbar. Vom fünften bis siebten Tag sind die Kerne unauffällig. Vom achten bis elften Tag aber läuft eine zweite Phase der Volumenzu- und Volumabnahme. Es scheint also von Neuem eine vermehrte Proteinsynthese notwendig geworden zu sein.

Es ist schwer, diesen zweifachen Wechsel zwischen pathologischen und normalen Befunden zu erklären, der in fast allen Kurvenverläufen beobachtet werden kann. Die Annahme, daß es sich um die Manifestation eines allgemeinen biologischen Rhythmus handelt, läßt die Frage nach dessen Ursache unbeantwortet. Vielleicht sind es Ermüdungserscheinungen, die den Kern zwingen, in der scheinbar gesunden Zwischenphase (hier 5. bis 7. Tag) eine Pause in seiner Synthesetätigkeit einzulegen. Dann würden die morphologischen und funktionellen Veränderungen der Nachschwankungsperiode (hier 8. bis 11. Tag) nicht eigentlich als Späterscheinung des Schadens selbst zu bewerten sein, sondern als Sichtbarwerden der wiederaufgenommenen Bemühungen um dessen Reparation.

Zusammenfassung

Bei Ratten wurde einseitig und doppelseitig der Nierenstiel für 20 Minuten abgeklemmt. Die so erzeugte akute postischämische Nephrose halten wir für ein Modell der sogenannten Schockniere.

Während der Erholungsphase haben wir den Verlauf der Diuresestörung, die histologischen Veränderungen sowie die Schwankungen der Zellkerngrößen in den Rindenepithelien untersucht. Dazu wurden aus mehreren Versuchsreihen Nieren 3, 6, 12, 36, 48 Stunden, 3, 4, usw. bis 12 Tage post operationem histologisch verarbeitet.

Die Untersuchungen hatten folgende Ergebnisse :

- Die Funktionsstörung äußerte sich in einer kurzfristigen initialen Anurie, die noch am ersten Tag von einer Polyurie mit vermindertem spezifischem Harngewicht gefolgt war. Nach 12 Tagen hatte die Niere ihre Konzentrationsfähigkeit wieder endgültig erreicht, wie an einem Durstversuch gezeigt werden konnte.
2. Histologisch hatte sich der Schaden sechs Stunden post operationem manifestiert. Unter den morphologischen Veränderungen treten Tubulusedilatation, Zylinder in Harnkanälchen, vakuoläre Zelldegeneration und Einzelzellnekrosen besonders hervor. Diese Befunde waren am 5. Tag verschwunden, traten aber in der Zeit vom 8. - 11. Tag in abgeschwächter Form erneut auf.
Nach zwei Tagen lief eine Mitosewelle über das ganze Nephron hin.
3. Die Verteilungskurven der Zellkerngrößen in den verschiedenen Nephronabschnitten hatten jeweils nur einen Gipfel. Demnach kommen im Tubulusepithel der Rattennieren Zellen mit halbem oder doppeltem Chromosomensatz unter normalen und unter unseren Versuchsbedingungen nicht vor.

Die mittlere Zellkerngröße im gewundenen Hauptstück und im Schaltstück zeigte charakteristische und in allen untersuchten Nephronabschnitten synchrone Schwankungen in Abhängigkeit von der Manifestationszeit. Nach 1-4 Tagen Manifestationszeit war die mittlere Zellkerngröße stark erhöht, im Durchschnitt bis zu 20-25%, als Zeichen einer gesteigerten Proteinsynthese während der zellulären Reparationsvorgänge. In einem vorübergehenden Abfall der Kur-

ven am 3. Tag kam die Reduktion der Kernmasse infolge der am 2. Tag abgelaufenen Mitosewelle zum Ausdruck.

Entsprechend der leichten Nachschwankung pathologisch-histologischer Befunde am 8. - 11. Tag wurde zu dieser Zeit auch in der Kurve der Kerngrößenbewegung eine schwache Nachschwankung beobachtet.

4. Zwischen der Hauptschädigungsphase und der zweiten, leichteren Schädigungsphase ist in allen Befunden ein dreitätiges, scheinbar gesundes Intervall eingeschoben. Dieses wird mit Ermüdung der Zell-Reparationsfähigkeit zu deuten versucht.

Literatur

1. Altmann, H. W.: "Funktionsformwechsel des Kerns im exokrinen Gewebe des Pankreas". Zschr. Krebsforsch., 58 (1952) 632.
2. Altmann, H. W. und Grundmann, E.: "Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen zur Vitalstruktur tierischer Zellkerne". Ziegler Beiträge 115 (1955) 313-344.
3. Benninghoff, A.: "Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung". Anat. Nachr. 1, 50. (und Auszug : Klin. Wschr. 28 (1950) 21/22, 384).
4. Bohle, A., Herfarth, Ch., Krecke, H. J.: "Beitrag zur Morphologie der Niere beim akuten Nierenversagen". Klin. Wschr. 38, (1960) 152.
5. Bucher, O., Gailloud, Ch.: "Zum Verhalten der Zellkerne bei verschiedenen Funktionszuständen der Nierenkanälchen". Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 14 (1958) 259.
6. Cain, H.: "Karyologische Befunde bei Regenerationsvorgängen der Niere." Verhandl. d. Dtsch. Ges. f. Path., 45. Tagung (1961). Stuttgart : Gustav Fischer Verlag, (1961) 174-178.
7. Davidson, J. N.: "The Biochemistry of the Nucleic Acids". Methnen's Monogr. on Biochem. Subjects. London, 1953.
8. Diefenbach, H. und Federlin, K.: "Vergleichende Kernmessungen an lebensfrischen und verschieden fixierten Leberzellen". Ff. Z. f. Path. 66 (1955) 16-23).
9. Eichner, D.: "Kernmessungen an Schilddrüse und Niere der Ratte unter experimentellen Bedingungen". Z. mikr. -anat. Forsch. 66 (1959) 85-95.
10. Elias, H. und Hennig: "Some Methods for the Study of Kidney Structure". Z. f. wiss. Mikr. 65 (Dez. 1961) 570.
11. Erkoçak, A.: "Caryometric and Histochemical Modification on the Proximal and Distal Tubules of the Mouse Kidney in the Case of Alloxan Diabetes". Path. et Biol. 9 (1961) 917-918.
12. Fajers, C. M.: "On the Effect of Brief Unilateral Renal Ischämie". Acta path. et mikrobiol. Scand. Supp. 106, Copenhagen : Ejnar Munksgaard (1955) 1-92.

13. Fajers, C.M.: "Experimental Studies in the So-Called Hepato-Renal-Syndrome". Acta path. et mikrobiol. Scand. Vdl. XXXIX, 4 (1956).
14. Grundmann, H. und Bach, G.: "Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller Hepatektomie". Ziegler Beiträge 123 (1960) 144-172.
15. Henrysson, Haselhoff, Hoffmann: "Kleines Lehrbuch der Statistik". Berlin; Walter de Gruyter (1960).
16. Intern. Nierensymposium Würzburg 1960: "Glomeruläre und tubuläre Nierenerkrankungen". Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
17. Jakobj, W.: "Volumetr. Untersuchungen an den Zellkernen der Menschen und die allgemeine Problematik der Zellkerngröße". Anat. Anz. 72 (1931) 236-247.
18. Lapp, H.: "Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die post-ischämische akute Nephrose". Votr. Med. Ges. Gießen, 23. 2. 1960.
19. Lapp, H. und Schafé, M.K.: "Verlauf der Sublimatnephrose bei Ratten". Ziegler Beitr. 123 (1960) 77-79.
20. Letterer, E.: "Allgemeine Pathologie". Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1959.
21. Losse, H. und Mohr, H.J.: "Pathogenese und Therapie des akuten Nierenversagens". Medizinische 51 (1958) 2081-2089.
22. Möricke, K.D.: "Mathematische Erörterungen zur Meßmethodik nicht runder Zellkerne". Anat. Anz. 100 (1955/55) 87.
23. Müller, D. und Lang, R.: "Zellkernvolumenbestimmung an segmentkernigen neutrophilen Leukozyten". Frankf. Zeitschr. f. Path. 71 (1961) 133.
24. Oehlert, W. und Schultze, B.: "Die Kerngröße als Ausdruck der synthetischen Aktivität des Kernes". Ziegler Beitr. 123 (1960) 101-114.
25. Opitz, E., Rotter, Wg., Hilscher, W.: "Über die 'Wiederbelebungszeit' der Rattenniere". Verh. dtsch. path. Ges. 37 (1953) 336-342.
26. Polster, Chr.: "Karyometrische und karyologische Untersuchungen an den Hauptstücksepithelien der Rattenniere bei experimenteller Eiweiß-nephrose". Virch. Archiv path. anat. 332 (1959) 420-430.
27. Protoplasmatologica: "Größenverhältnisse polyploider Kerne". Bd. VI C, Endomitose, Wien, Springer-Verlag, 1953.

28. Puff, A.: "Methode zur planimetrischen Kernvolumenbestimmung an uneinheitlichem Kernmaterial". Zschr. wiss. Mikr. 61 (1952) 210-212.
29. Randerath, E. und Bohle, A.: "Morphologische Grundlagen akuter extrarenal bedingter Nierenfunktionsstörungen". Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 65. Kgr. (1959) 250-269.
30. Rotter, Wg.: "Über die Pathologie der postischämischen Erholungsperiode". Ber. d. oberh. Ges. f. Natur und Heilkunde zu Gießen 1958/59.
31. Rotter, Wg.: "Pathologie der Schockniere". Vorträge des 3. deutschen Elektrolyt-Symposion, Melsunger Med. pharm. Mitteilungen, Heft 3 (1959) 1772.
32. Rotter, Wg., Lapp, H., Zimmermann, H.: "Pathogenese und morphologisches Substrat des akuten Nierenversagens und seine Erholungszeit". Dtsch. med. Wochenschr. 87, 14 (1962) 669-677.
33. Voss, H.: "Die Volumenbestimmung kugelförmiger Kerne mit der indirekten oder Planimetermethode". Anat. Anz. 98 (1951) 41.
34. Zimmermann, H.: "Experimentelle histologische, histochemische und funktionelle Untersuchungen zur Frage der Nierenschädigung nach temporärer Ischämie". Beitr. path. Anat. 117 (1957) 65-84.
35. Zimmermann, H.: "Über die Erholungszeit der postischämischen Schwellung, Atrophie und Dilatation der Nierenhauptstücke". Verh. d. dtsh. Ges. f. Pathologie, 44. Tagung (1960).

Lebenslauf

Als Sohn des praktischen Arztes Dr. Aloys Müller und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Kipp, wurde ich am 19. Januar 1938 zu Aschaffenburg am Main geboren. - Mit Kriegsende übersiedelten meine Eltern nach Bad Homburg vor der Höhe. Hier besuchte ich vier Jahre die Volksschule und neun Jahre lang das Realgymnasium. Ostern 1958 bestand ich an der Kaiserin Friedrich Schule in Bad Homburg v. d. H. die Reifeprüfung. - Im Sommersemester 1958 wurde ich an der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt immatrikuliert und legte am 17. Februar 1959 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Nach drei weiteren vorklinischen Semestern bestand ich am 18. Juli 1960 die ärztliche Vorprüfung. Während meines klinischen Studiums studierte ich fünf Semester in Frankfurt und eins in Innsbruck und meldete mich im Herbst 1963 zum medizinischen Staatsexamen in Frankfurt am Main.

Frankfurt am Main, den 2.12.1963

Godehard Müller

Meine akademischen Lehrer waren :

Prof. Dr. W. Artelt	Geschichte der Medizin
Prof. Dr. H. Asperger	Pädiatrie
Prof. Dr. K. Felix	Physiolog. Chemie
Prof. Dr. J. Frey	Innere Medizin
Prof. Dr. A. Gebauer	Innere Medizin
Prof. Dr. R. Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. H. Giersberg	Zoologie
Prof. Dr. O. Grüner	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. W. Halbsguth	Botanik
Prof. Dr. E. Heinz	Physiologische Chemie
Prof. Dr. F. Herrmann	Dermatologie
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene und Bakteriologie
Prof. Dr. A. Hittmair	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr. P. Huber	Chirurgie
Prof. Dr. O. Käser	Geburtshilfe und Gynäkologie
Prof. Dr. H. Konzett	Pharmakologie
Prof. Dr. F. Lang	Pathologie
Prof. Dr. H. Lapp	Pathologie
Prof. Dr. K. Luff	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. R. Mittermaier	HNO-Heilkunde
Prof. Dr. H. A. Müser	Physik
Prof. Dr. R. Ortmann	Anatomie
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. P. Royen	anorg. Chemie
Prof. Dr. B. de Rudder	Pädiatrie
Prof. Dr. A. Schinzel	Hygiene und Bakteriologie
Prof. Dr. A. W. Schwenzer	Geburtshilfe und Gynäkologie
Prof. Dr. D. Starck	Anatomie
Prof. Dr. R. Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr. E. Ungeheuer	Chirurgie
Prof. Dr. K. Weiße	Pädiatrie
Prof. Dr. Th. Wieland	org. Chemie
Prof. Dr. K. Wezler	Physiologie
Prof. Dr. J. Zutt	Psychiatrie und Neurologie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel : "Funktionelle, histologische und karyometrische Untersuchungen an der Rattenniere nach akuter temporärer Ischämie" im Senckenbergischen Pathologischen Institut der Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Prof. Dr. H. Lapp ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 2. Dezember 1963

Godehard Müller

